действия фитогормона эпибрассинолида на организм животных в раннем онтогенезе. Астрахань, АГПУ, 2002. 269 с.
5. Ананьев В.И., Андреев А.А., Голованова Т.С., Петропавлов Н.Н., Цветкова Л.И. Опыт криоконсервации спермы белорыбицы и белуги // Рыбн. хоз-во. Сер. Аквакультура: Информпакет / ВНИЭРХ. 1998. Вып. 1. С. 25-32.
6. Егоров М.А. Организация криобанка генофонда ценной флоры и фауны юга России // Ж. «Современные наукоемкие технологии». N 1. М., Академия РАЕ, 2004. С. 54-55.
7. Егоров М.А. О создании международного криобанка генофонда флоры и фауны Каспийского бассейна // Ж. «Цитология». Том 46, N 9. СПб., «Наука» РАН, 2004. С. 791-792.
8. Egorov M.A. The secret land //International Journal «Caspian Research» Book. N. 5. Baku, 2003. P. 85–88.

УДК 636.4.082.12

Л.К. Эрнст, Н.А. Волкова, П.М. Кленовицкий, Н.А. Зиновьева, Л.А. Волкова
Всероссийский Государственный научно-исследовательский институт животноводства (ВИЖ), Российская академия сельскохозяйственных наук

ВЛИЯНИЕ ИНТЕГРАЦИИ ГЕННОЙ КОНСТРУКЦИИ WAP/HGH НА ПОДДЕРЖАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА У СВИНЕЙ

Среди многих биологических проблем сохранение генетических ресурсов животных имеет особое значение. Традиционно этот вопрос понимают как решение проблемы связанных с сохранением малочисленных видов и пород животных. Однако с развитием методов направленного воздействия на геном в результате деятельности человека возникли новые генетические формы животных, проблема использования и сохранения которых, в том числе и методами ex situ, стоит не менее остро.

В ВИЖе в последние десятилетия активно ведутся работы по разведению трансгенных свиней и сохранению их генофонда (Эрнст Л.К. и др., 2002). При этом одновременно возник вопрос об оценке стабильности генома трансгенных животных. В результате обследования трансгенных животных обнаружено, что микроинъекции чужеродной ДНК обуславливают дестабилизацию генома потомства (Brem G., 1993; Кленовицкий П. М. и Некрасов А. А., 1998). Показано, что в ряде случаев трансгенез сопровождается хромосомными перестройками (Marx J.L., 1985). Повышенный уровень хромосомной изменчивости отмечен у свиней первого поколения, трансгенных по mMT1/hGRF, и кроликов, трансгенных по MCP (Zinovieva N. et al., 2001; Bagirov V.A. et al., 2003). Это свидетельствует о необходимости изучения цитогенетических последствий генно-инженерных манипуляций с животными. Не исключено, что возникновение аберрантных хромосом связано с действием экзогена, однако для окончательного заключения необходимо провести дополнительные исследования.

Цель работы изучить влияние экзогенной конструкции на состояние генома у трансгенных по WAP гену животных. Для достижения поставленной цели изучали уровень хромосомной изменчивости у трансгенных свиней и контрольных животных.

Препараты хромосом получены из 72-часовой культуры лимфоцитов по общепринятым методикам с учетом внесенных нами модификаций. При анализе кариотипа животных в культуру для получения хромосом, пригодных для анализа их дифференциальной структуры вводили 5'BrdU и бромистый этидий в дозах 20 и 15 мкг/мл на 64 и 68 часу, соответственно. Препараты окрашивали по Гимза.

Для проведения цитогенетических исследований использовали цифровую видеокамеру КС-583С (Тайвань) и программу Image Scope 1 (фирма СМА, Россия) в комплексе с программой Photoshop 5.5. Принципиальная схема анализа хромосом на основе этих программ описана нами ранее (Волкова Л.А. и др., 2004).

В опыте были исследованы три хряка 6-го поколения, трансгенные по гену соматотропина под WAP промотором. В качестве контроля служили их интактные братья и полубратья из экспериментального хозяйства ВИЖа Кленово – Чегодаево. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что обследованные группы живот-

Таблица 1

Уровень хромосомной изменчивости у свиней

Порода	Помеси крупная белая - ландрас	
Группа	WAP/hGH	Контроль
Поколение	6	6
ņ	3	4
Уровень хромосомной изменчивости в %	19,50±4,0	3,12±5,4



Рисунок 1. Метафаза контрольного хряка, несущая разрывы хромосом (показаны стрелками)

ных различались по уровню хромосомных аберраций. Минимальный уровень нарушений хромосомного набора отмечен у контрольных хряков из Кленово – Чегодаево. Подавляющее число нарушений, обнаруженных у контрольных животных представлено хроматидными разрывами.

Наибольшее количество аберрантных клеток выявлено у хряков, трансгенных по WAP/hGH. У хряков, трансгенных по WAP/hGH, помимо разрывов выявлены и различные транслокации хромосом (рис. 1).

Результаты проведенных исследований позволяют предположить, что уровень нестабильности хромосом у обследованных животных зависит от взаимодействия их генотипа и внешних факторов, характер которого изменяется в присутствии

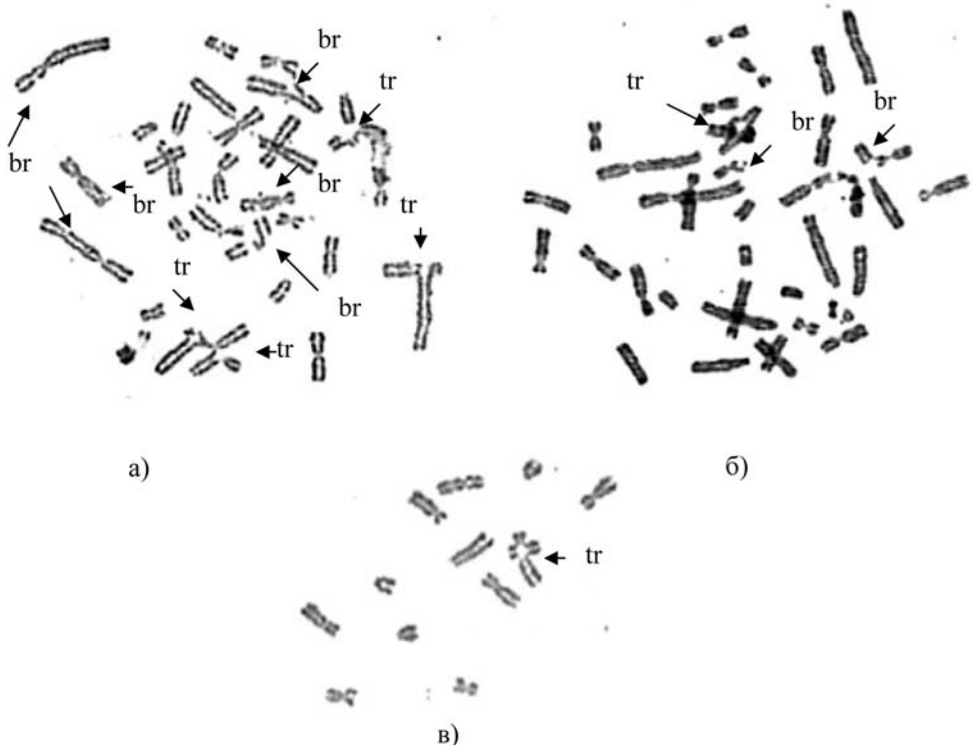


Рисунок 2. Множественные разрывы (br) и транслокации (tr), показаны стрелками, в клетках культуры лимфоцитов у трансгенного по WAP/hGH хряка 048 (6-е поколение):
а) клетка с множественными разрывами и транслокациями; б) клетка с транслокацией и разрывами; в) фрагмент метафазы с транслокацией

экзогена. Независимо от функции последнего его интеграция в геном организма-хозяина оказывает дестабилизирующее влияние на его хромосомный набор, что необходимо учитывать при сохранении и размножении трансгенных животных.

SUMMARY

As a result of the directed influence on a gene new genetic forms of animals are created. A problem of their use and preservation including methods ex situ, costs not less sharply, than small species and breeds of animals. It is established, that integration into a gene of an organism-owner of design WAP/hGH renders destabilizing influence on its chromosomal complement that it is necessary to consider at preservation and duplication transgenic animals.

Литература

1. Волкова Л.А., Ларионова П.В., Кленовицкий П.М., Волкова Н.А., Зиновьева Н.А. Методические вопросы цитогенетики птицы. Дубровицы. 2004. 22 с.
2. Кленовицкий П.М., Некрасов А.А. Мутационные изменения у трансгенных животных // Актуальные проблемы развития животноводства. / Труды ВИЖа. 1998. Вып. 57. Ч. 4. С. 184-191.
3. Эрнст Л.К., Кононов В.П., Багиров В.А. и др. Трансгенные поросята от спермы, хранившейся в течении десяти лет / Свиноводство. 2002. № 3. С. 23-24.
4. Bagirov V.A., Klenovitsky P.M., Zinoveva N.A. Analysis of chromosome aberrations in transgenic pigs and rabbits / Book of Abstracts of the 54th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Animal Genetics – Rome, Italy. ageningen Academic Rublissher. 2003. P. 14.
5. Brem G. Transgenic animals // Biotechnology. 1993. V. 2. P. 745-832.
6. Marx J.L. Making mutant mice by gene transfer / Science. 1985. V. 228. P. 1516-1517.
7. Zinoveva N., Klenovitsky P., Dozev A., Gladir E., Ernst L., Brem. G. Comparative study of chromosomal status in transgenic and nontrangenic rabbits / International conference - Actual problems of DNA- Technologies and Cell Engineering of Agricultural Animals, Dubrovitzy. 2001. P. 125- 126.